

## **КУЛЬТУРАЛЬНІ ТА БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВИДІЛЕНИХ CAMPYLOBACTER SPP.**

**Лапа О.Ю., аспірант**  
**Якубчак О.М., д. вет. н., професор**  
e-mail [llu706@mail.ru](mailto:llu706@mail.ru)

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ*  
**Бойко П.К., д-р вет. наук, старший науковий співробітник**  
*Інститут ветеринарної медицини НААН, Київ*

**Анотація.** У статті наведені результати досліджень морфологічних ознак, тинкторіальних, культуральних і біохімічних властивостей виділених мікроорганізмів від свиней та великої рогатої худоби.

За біохімічними показниками встановлено, що виділені збудники від великої рогатої худоби відносились до *Campylobacter jejuni*, а від свиней – *Campylobacter coli*. Не виявлено суттєвих відмінностей культуральних і біохімічних властивостей у досліджуваних ізолятів та еталонного штаму *Campylobacter*.

**Ключові слова:** *Campylobacter*, морфологічні ознаки, тинкторіальні, культуральні, біохімічні властивості.

**Актуальність проблеми.** В останні роки в Україні, як і в країнах Європи, харчовий фактор серед спалахів захворюваності гострими кишковими інфекціями стабільно зростає. Його частка становить 40–50 % від усіх хворих. Економічні втрати від цих захворювань перевищують мільйон доларів США [1, 2]. Це обумовлено глибокими змінами основних рушійних сил епідемічного процесу харчових токсикоінфекцій, які пов'язані з неконтрольованим застосуванням антибіотиків у гуманній та ветеринарній медицині. Новітні технології тривалого зберігання продуктів харчування створили сприятливі умови для накопичення в продуктах маловивчених мікроорганізмів. З'явилися їхні нові форми, що супроводжуються транслокацією збудників із кишечника в кров та внутрішні органи тварин і людей. За рахунок мікроорганізмів («емерджентних патогенів» за термінологією ФАО/ВООЗ), значно зросли ризики виникнення захворювань. До числа емерджентних патогенів відноситься і *Campylobacter spp.*, який викликає особливу занепокоєність у фахівців, оскільки цей агент відноситься до числа представників нормальної мікрофлори травного каналу тварин та птиці [3, 4].

Аналіз наукової літератури свідчить, що бактерії роду *Campylobacter* є однією з основних причин гострих кишкових інфекцій бактеріального походження в жителів розвинених країн, перевищуючи в деяких регіонах частоту реєстрації сальмонельозів та ешерихіозів [5–7].

Саме тому необхідно всебічно вивчити морфологічні та фізіологічні особливості мікроорганізмів роду *Campylobacter* з метою вдосконалення методів індикації й ідентифікації цих збудників серед інших патогенів харчових токсикоінфекцій.

**Завдання дослідження:** вивчити морфологічні ознаки, культуральні, тинкторіальні та біохімічні властивості, чутливість до антимікробних речовин виділених мікроорганізмів від свиней та великої рогатої худоби, порівняно з еталонним штамом *Campylobacter jejuni*. За цими показниками встановити вид збудників.

**Матеріал і методи дослідження.** Виділення ізолятів *Campylobacter spp.* проводили згідно чинного ДСТУ ISO 10272-1:2007 [8].

Матеріалом для ізоляції кампілобактерій слугував: вмістиме сліпих кишків великої рогатої худоби і свиней, що відбиралися на бойні.

Для виділення кампілобактерій використовували бульйон Болтона, *Campylobacter*-агар М 994, деревно-вугільний дезоксихолатний агар із цефоперазоном (mCCD-агар) виробництва *Himedia Laboratories* (Індія).

Усі культури інкубували за температури 41,5±0,5 °С в ексікаторі у мікроаеробних умовах, яких досягали за допомогою методу «палаючої свічки».

Морфологію виділених мікроорганізмів вивчали за допомогою світлової (фарбування за Грамом) і фазово-контрастної мікроскопії (препарат «роздушена крапля»). Культуральні, біохімічні

властивості та антибіотикорезистентність кампілобактерій досліджували згідно загальноприйнятих методик. Диференційну діагностику проводили за визначником Берджі [9].

**Результати дослідження.** Відібрані нами проби вмістимого сліпих кишок від свиней та великої рогатої худоби спочатку вносили у середовище накопичення (бульйон Болтона) і ставили в термостат на 2 доби за температури  $41,5 \pm 0,5$  °С. Виявляли характерне для кампілобактерій однорідне помутніння та осад у пробірках. Після пересіву культур з рідкого середовища на 2 твердих, які кардинально відрізнялися за своїм складом (М 994 і МССD-агари), через 48 год інкубування спостерігали наступні зміни: культури мікроорганізмів утворювали ніжні дрібноросинчасті сіро-білі чи сіро-блакитні дрібні блискучі випуклі колонії, що нагадували краплі конденсату, характерні для кампілобактерій.

У препаратах, зафарбованих за Грамом, виявляли грамнегативні палички, що мали вигляд тонких спірально вигнутих навколо осі мікроорганізмів; деякі з них мали вигляд коми, чайки у польоті чи латинської букви V; спор та капсул не утворювали. Інкубування виділених культур упродовж 72 год і довше призводило до поліморфізму – типові звивисті форми бактерій перетворювалися на кокові та паличкоподібні форми різної величини. Фазово-контрастною мікроскопією в препаратах «роздушена крапля» виявляли тонкі поліморфні рухливі палички, які мали гвинтоподібний рух.

Результати вивчення культуральних і біохімічних властивостей та чутливості кампілобактерій до окремих антибактеріальних речовин вказували, що всі культури мікроорганізмів утворювали каталазу (швидка поява бульбашок під час реакції у виділених культурах від великої рогатої худоби, трохи повільніша – у виділених культурах від свиней) та оксидазу (утворення насиченого фіолетового забарвлення під час реакції у культурах від великої рогатої худоби, бузкового – у культурах від свиней; табл. 1).

Таблиця 1

**Культурально-біохімічні властивості та чутливість до окремих антибактеріальних речовин польових ізолятів і еталонного штаму кампілобактерій**

Показники	Результати досліджень польових ізолятів та еталонного штаму <i>Campylobacter</i>		
	Виділені мікроорганізми від великої рогатої худоби	Виділені мікроорганізми від свиней	<i>Campylobacter jejuni</i>
Ріст за 25°C	–	–	–
Ріст за 37°C	+	±	+
Ріст за 41°C	+	+	+
Ріст на середовищі з 1% гліцерином	+	+	+
Ріст на середовищі з 1% бичачої жовчі	+	+	+
Ріст на середовищі з 1,5% NaCl	–	–	–
Гемоліз на КГМПА	–	–	–
Утворення H <sub>2</sub> S на трицукровому агарі	–	–	–
Продуктування оксидази	+	±	+
Продуктування каталази	+	±	+
Продуктування індолу	–	–	–
Гідроліз натрію гіпурату	+	–	+
Перетворення нітратів до нітритів	–	–	–
Чутливість до налідиксової кислоти	чутливі	чутливі	чутливі
Чутливість до цефалотину	резистентні	резистентні	резистентні

За результатами температурного тесту не виявлено ростових властивостей виділених культур за 25 °С; за 37 °С відзначався дещо сповільнений ріст, особливо у виділених культур від свиней, а оптимальною для росту всіх досліджених мікроорганізмів була температура  $41 \pm 0,5$  °С.

Згідно результатів даних досліджень, можна стверджувати, що виділені нами культури відносилися до роду *Campylobacter*.

Культури *Campylobacter* не продукували індол, не відновлювали нітратів до нітритів, не утворювали сірководень під час культивування на трицукровому агарі. Ці біохімічні властивості проявляли всі три види досліджуваних культур – виділенні мікроорганізми від великої рогатої худоби та свиней і еталон *Campylobacter jejuni*.

Із культуральних властивостей слід відзначити, що виділені мікроорганізми *Campylobacter* росли на середовищах з 1,5 % NaCl, 1 % гліцином та 1 % бичачої жовчі, не проявляли гемолітичних властивостей; були чутливими до налідиксової кислоти та резистентні до цефалотину.

Еталонний штам *Campylobacter jejuni* та виділені мікроорганізми від великої рогатої худоби розкладали натрію гіпурат з утворенням натрію бензоату та натрію гліцинату (який давав кольорову реакцію з нінгідрином – під час реакції протягом 1–2 хв колір розчину змінювався на фіолетовий).

За результатом біохімічних досліджень можемо стверджувати, що і виділені культури від великої рогатої худоби належали до виду *Campylobacter jejuni*, як і еталонний штам, тоді як виділені культури від свиней – до *Campylobacter coli*.

#### **Висновки**

1. Тинкторіальними, культуральними властивостями та морфологічними ознаками встановлено, що виділені мікроорганізми належать до роду *Campylobacter* – грамнегативні рухливі палички, які мали вигляд тонких, спірально вигнутих навколо осі мікроорганізмів, спор та капсул не утворювали. На рідких живильних середовищах створювали помутніння та осад, на щільних – сіро-білі чи сіро-блакитні колонії, що нагадували краплі конденсату.

2. В реакції з натрієм гіпуратом встановлено, що виділені культури із сліпих кишок великої рогатої худоби так само як і еталонний штам, належали до виду *Campylobacter jejuni*, а виділені культури зі сліпих кишок свиней – до *Campylobacter coli*.

#### **Література**

1. Кампілобактеріоз птиці : [монографія] / Т.І. Фотіна, А.В. Березовський, О.І. Касяненко, Ю.Є. Дворська. – Сумський національний аграрний університет, 2010. – 140 с.
2. Куликовський А.В. Эмерджентные пищевые зоонозы / А.В. Куликовський. – М.: Крафт Плюс, 2004. – 176 с.
3. Скородумов Д.И., Субботин В.И., Сидоров М.А., Костенко Т.С. – Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных: М.: Изограф, 2005. – 656 с.
4. Identification of *Campylobacter* species. UK Standards for Microbiology Investigations [Електронний ресурс] // Public Health England. – 2015. – Режим доступу до ресурсу: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/436968/ID\\_23i3.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/436968/ID_23i3.pdf).
5. Литусов Н.В. Кампилобактерии. Иллюстрированное учебное пособие / Н.В. Литусов. – Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМА, 2012. – 18 с.
6. Пиляй С.В. Кампілобактеріоз птиці та його діагностика / С.В. Пиляй // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – № 22. – С. 168–174.
7. Фотіна Т.І. Диференціально-діагностичні ознаки кампілобактерій / Т.І. Фотіна, О.І. Касяненко, Т.В. Вершняк / Вісник СНАУ (Наук. метод. журнал). Серія «Ветеринарна медицина». – Суми, 2009. – Вип. 3 (24). – С. 135–138.
8. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахунку кампілобактерій (*Campylobacter* spp.). Частина 1. Метод виявлення (ISO 10272-1:2006, IDT) : ДСТУ ISO 10272-1:2007. – [Чинний від 2008-03-01]. – К. Держспоживстандарт України 2008. – 23 с. (Національний стандарт України).
9. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Пер. с англ./ Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига и др. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – С. 61–64.

#### **КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ CAMPYLOBACTER SPP.**

Лапа Е.Ю., аспирант

Якубчак О.Н., д-р вет. наук, профессор

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

Бойко П.К., д-р вет. наук, старший научный сотрудник

Институт ветеринарной медицины НААН, Киев

Аннотация. В статье приведены результаты исследований морфологических признаков, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов от свиней и крупного рогатого скота в сравнении с эталонным штаммом *Campylobacter jejuni*. По биохимическим показателям установлено, что выделенные микроорганизмы от крупного рогатого скота относились к *C. jejuni*, а от свиней – *C. coli*. Не выявлено существенных различий культуральных и биохимических свойств исследуемых культур и эталонного штамма *Campylobacter*.

Ключевые слова: Campylobacter, морфологические признаки, тинкториальные, культуральные, биохимические свойства.

CULTURAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF ISOLATES OF CAMPYLOBACTER SPP.

O. Lapa, O. Iakubchak, P. Boyko

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

Institute of Veterinary Medicine NAAS, Kyiv, llu706@mail.ru

Summary. The analysis of the scientific literature showed that Campylobacter pathogen in major cases causes acute intestinal infections of bacterial origin spread in developed countries, in some areas even exceeding cases of Salmonellosis and Escherichiosis incidence. Therefore it is necessary to examine general characterization of Campylobacter genus microorganisms and their properties to improve the diagnostics and identification of these pathogens from other food-borne agents.

The goal of the work was research the morphological characteristics, cultural, tinctorial, biochemical properties and sensitivity to antimicrobial substances of the reference strain Campylobacter jejuni and two isolates of Campylobacter, identify their genus. Isolation of strains was performed according to the current DSTU ISO 10272-1: 2007. The differential diagnosis was performed by [Bergey's manual of determinative bacteriology](#). The material for the isolation of Campylobacter was: the cloacal contents of broilers and of the blind gut of cattle and pigs.

We studied strains and identified the types of Campylobacter isolates according to the abovementioned methods.

Tinctorial, cultural properties and morphological characteristics revealed that the studied isolates belonged to the genus Campylobacter – were gram-negative rods moving, looked like a thin, spirally curved around the axis of microorganisms, capsules and spores do not form. During cultivation in liquid nutrient media noted the typical uniform turbidity and sediment in vitro, in dense environments was significantly grayish-white or gray-bluish colonies, resembling drops of condensation. The results of the temperature test were found properties of isolated cultures grown in 25 °C; at 37 °C was observed somewhat slow growth, especially in isolated cultures from pigs and optimal for the growth of all studied microorganisms temperature was 41 ± 0,5 °C. According to the results of these studies, it can be argued that the emphasis of culture related to the genus Campylobacter.

Campylobacter crops not produced indole, not restored nitrate to nitrite, hydrogen sulfide is not formed during cultivation on agar. These biochemical properties showed all three species studied cultures – the allocation of microorganisms from cattle and pigs and standard C. jejuni. As a result of biochemical research, namely the reaction of sodium hipurat, we can say that 1-st isolate, as well as the reference strain was the C. jejuni species (formation a violet color), and 2-nd isolate – was C. coli.

Key words: Campylobacter, morphological features tinctorial, cultural, biochemical properties.

УДК 619:578:616.98

КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСУ РИНОТРАХЕЇТУ ІНДИКІВ В КУЛЬТУРІ КЛІТИН VERO

Мазуркевич В.І. аспірант, dmandred91@gmail.com

Недосеков В.В. д. вет. н., професор, nedosekov1@rambler.ru

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

**Анотація.** В даній статті описано перевірку двох розроблених методів культивування вірусу Ринотрахеїту Індиків в культурі клітин VERO. За результатами перевірки цитопатогенної дії та кінцевого титру вірусу, показана перевага методу культивування вірусу в матрацах та можливість його подальшого застосування для напрацювання біомаси вірусу.

**Ключові слова:** культура клітин, вірус, цитопатогенна дія, титр, культивування.

**Актуальність проблеми.** Метапневмовірусна інфекція птиці (МПВІП) – високо контагіозне респіраторне захворювання індиків, курей та інших видів домашньої та дикої птиці, яке характеризується запальними процесами верхніх дихальних шляхів [17].

Вірус викликає інфекцію верхніх дихальних шляхів у курей та індиків різного віку. Реєструється в країнах світу де розвинуте птахівництво. Є дані про виділення метапневмовірусу птиці у Росії, США, Південній Африці, Німеччині, Франції, Італії, Іспанії,